

## **AValiação DOS EFEITOS COMPORTAMENTAIS DA ATIVAÇÃO DE RECEPTORES 5-HT1A NO CóRTEX PRÉ-FRONTAL DE CAMUNDONGOS**

Anderson Gusthavo dos Santos Muceniaks (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Rúbia Maria Weffort de Oliveira (Orientador), e-mail: rmmwoliveira@uem.br  
Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas e da Saúde/Maringá, PR.

### **FARMACOLOGIA / NEUROPSICOFARMACOLOGIA**

**Palavras-chave:** córtex pré-frontal, agonista tendencioso, receptores 5-HT1A

#### **Resumo:**

Estudos demonstraram que o agonista tendencioso F15599, também denominado NLX-101, com alta afinidade para heterorreceptores 5-HT1A no córtex cerebral apresenta melhora de funções cognitivas e efeitos benéficos em comportamentos relacionados a doenças neurodegenerativas. Recentemente esses agonistas apresentaram também efeitos do tipo antidepressivo no teste do nado forçado, ou quando submetidos ao modelo de estresse crônico imprevisível, além de efeitos do tipo ansiolítico no modelo de interação social. Entretanto, esses estudos demonstraram efeitos comportamentais pela administração sistêmica aguda ou crônica, e não existem evidências experimentais dos efeitos da administração intracerebral no córtex pré-frontal (CPF), região relacionada ao controle do humor e cognição, possivelmente uma das responsáveis por tais efeitos. Portanto, neste estudo objetivou-se testar o efeito da injeção do agonista tendencioso F15599 diretamente no CPF de camundongos. Após a administração do composto, os animais foram avaliados em testes de atividade locomotora e exploratória (campo aberto) e no teste da natação forçada. Devido às restrições impostas pela pandemia da COVID-19, os experimentos ainda não foram finalizados e os resultados parciais estão sendo analisados.

#### **Introdução**

O termo agonista tendencioso indica um agonista de um receptor específico que ativa preferencialmente uma de várias vias de sinalização molecular, enquanto outro agonista, no mesmo sistema e agindo sobre o mesmo receptor, é capaz de ativar outras vias de sinalização (Patel et al., 2010). A principal hipótese para isso sugere que cada ligante estabiliza uma conformação específica de um dado receptor (Kenakin & Miller, 2010), de modo que diferentes conformações de um mesmo receptor apresentem afinidades variadas para os diferentes tipos de proteína G, afetando de forma diferente as vias de sinalização intracelular (Michel & Charlton, 2018). No caso do receptor de serotonina 5-HT1A, o F15599 exibe alta afinidade para heterorreceptores 5-HT1A presentes no córtex cerebral, enquanto o F13714 apresenta alta afinidade para autorreceptores 5-HT1A localizados nos núcleos da rafe (Becker et al., 2016). Estudos utilizando ratos demonstraram que o F15599 pode inibir os neurônios da rafe (quando em

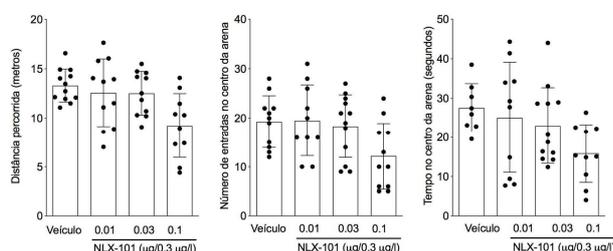
altas doses) e estimular neurônios no córtex frontal e a liberação de dopamina no CPF (quando em baixas doses) (Llado-Pelfort et al., 2010). O F15599 demonstrou efeitos benéficos em comportamentos relacionados a doenças neurodegenerativas, tais como Parkinson e Alzheimer (Iderberg et al., 2015). Outros estudos têm relacionado os efeitos desses agonistas na melhora em funções cognitivas (Depoortère et al., 2010), bem como na performance no teste de padrão de separação em ratos jovens (van Goethem et al., 2015) com tratamentos agudos. Recentemente esses agonistas apresentaram também efeitos do tipo antidepressivo (Depoortère et al., 2019a) e efeitos do tipo ansiolítico (Depoortère et al., 2019b).

### **Materiais e métodos**

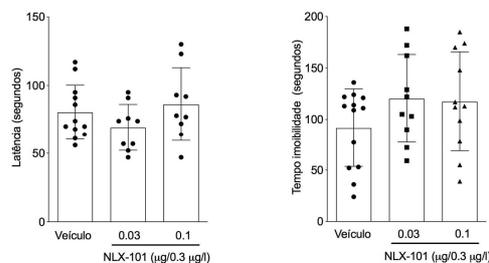
Todos os procedimentos experimentais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Maringá (CEUA Nº 1162250919). Foram utilizados camundongos Swiss machos pesando entre 25-35 gramas. Após realização de anestesia, os animais foram colocados em um aparelho estereotáxico para camundongos (David-Kopf, USA, 957) e uma incisão longitudinal foi feita na pele da cabeça, para a exposição do crânio e remoção do periósteo. O crânio foi colocado em posição horizontal entre bregma e lambda e, por meio de uma broca dental, dois orifícios foram perfurados no osso, para a fixação de parafusos de suporte. Foram adotadas as coordenadas: anteroposterior 2,0 mm do bregma, lateral 1,4 mm e ventral -2,33 mm, com ângulo de 20°. As cânulas tinham a dimensão de 0,5 mm x 7 mm e foram fixadas ao crânio com acrílico autopolimerizável. Depois de fixadas, receberam mandris de aço para prevenir possível obstrução. Inicialmente foi realizada a curva dose-efeito em animais implantados com cânulas no córtex pré-frontal (CPF), para determinação da dose efetiva do F15599 neste local (doses 0,01 µl, 0,03 µl e 0,1 µl). 5 dias após a cirurgia, os animais receberam microinjeções intracerebrais de salina ou drogas, através de agulhas Mizzy (0,5 mm x 7 mm) introduzidas nas cânulas-guia. As agulhas, conectadas a microseringas Hamilton (5 µl) ultrapassavam em 1 mm o comprimento das cânulas, a fim de atingir o tecido cerebral. As microinjeções foram realizadas em tempo e volumes constantes (0,3µl/30seg) através de bomba de infusão. 30 minutos após receberem as microinjeções, os animais foram submetidos ao Teste do Nado Forçado (TNF) e subseqüentemente ao Teste do Campo Aberto (CA). Em um segundo experimento, estava previsto realizar 2 tratamentos, sendo o primeiro a injeção intracerebral do antagonista WAY100635 (1 nmol/lado) de receptores 5-HT1A no CPF, e 10 minutos mais tarde, injeção intraperitoneal de F15599. Porém, devido às restrições da pandemia da COVID-19, não foi possível realizar este experimento. Após os testes comportamentais, os animais foram anestesiados e perfundidos transcardiacamente para fixação do tecido nervoso. Antes da remoção dos cérebros, foi realizada microinjeção do corante azul de Evans (0,2 µl), para identificação histológica dos sítios das microinjeções. A identificação histológica dos sítios de microinjeção está sendo realizada. Após tal etapa será possível a análise estatística dos resultados comportamentais.

## Resultados e Discussão

Os resultados obtidos são demonstrados nas figuras 1 e 2. A injeção de NLX-101 no CPF de camundongos não modificou os parâmetros no CA, demonstrando que não houve alteração da atividade locomotora ou do comportamento tipo-ansiedade. Da mesma forma, não foram observadas diferenças significativas dos parâmetros avaliados no TNF entre os grupos que receberam veículo ou NLX-101. Este achado não coincide com resultados publicados em ratos que receberam NLX-101 na mesma estrutura cerebral e apresentaram alívio de comportamentos tipo-depressivos (Depoortère et al., 2021). Tal discrepância pode ser explicada devido à análise estatística parcial dos dados, tendo em vista que a análise histológica para a confirmação dos sítios de injeção ainda está em curso.



**Figura 1. Parâmetros analisados no Teste do Campo Aberto.** O gráfico da esquerda representa a distância percorrida (em metros) dos grupos veículo (n=12), dose 0,01 µl (n=11), dose 0,03 µl (n=11) e dose 0,1 µl (n=10) de NLX-101. O gráfico central representa o número de entradas no centro da arena dos grupos veículo (n=11), dose 0,01 µl (n=10), dose 0,03 µl (n=12) e dose 0,1 µl (n=11) de NLX-101. O gráfico da direita representa o tempo (em segundos) que os animais permaneceram no centro da arena dos grupos veículo (n=8), dose 0,01 µl (n=10), dose 0,03 µl (n=12) e dose 0,1 µl (n=10) de NLX-101.



**Figura 2. Parâmetros analisados no Teste do Nado Forçado.** O gráfico da esquerda representa o tempo de latência (em segundos) para o aparecimento da imobilidade dos grupos veículo (n=12), dose 0,03 µl (n=9) e dose 0,1 µl (n=9) de NLX-101. O gráfico da direita representa o tempo de imobilidade (em segundos) dos grupos veículo (n=13), dose 0,03 µl (n=10) e dose 0,1 µl (n=11) de NLX-101.

## Conclusões

Os resultados mostram que a administração de NLX-101 no CPF de camundongos não alterou os comportamentos tipo ansiosos e depressivos.

## Agradecimentos

Agradecemos à Universidade Estadual de Maringá, ao programa de pós-graduação em ciências farmacêuticas (PCF), à Capes, à Fundação Araucária e ao CNPq.

## Referências

- BECKER, Guillaume et al. **Selective serotonin 5-HT 1A receptor biased agonists elicit distinct brain activation patterns: a pharmacological MRI study.** Scientific Reports, v. 6, n. 1, p. 1-12, 2016.
- DEPOORTÈRE, Ronan et al. **F15599, a preferential post-synaptic 5-HT<sub>1A</sub> receptor agonist: activity in models of cognition in comparison with reference 5-HT<sub>1A</sub> receptor agonists.** European Neuropsychopharmacology, v. 20, n. 9, p. 641-654, 2010.
- DEPOORTÈRE, Ronan et al. **Cortical 5-hydroxytryptamine 1A receptor biased agonist, NLX-101, displays rapid-acting antidepressant-like properties in the rat chronic mild stress model.** Journal of Psychopharmacology, v. 33, n. 11, p. 1456-1466, 2019a.
- DEPOORTÈRE, Ronan et al. **Serotonin 5-HT<sub>1A</sub> receptor biased agonists display differential anxiolytic activity in a rat social interaction model.** ACS Chemical Neuroscience, v. 10, n. 7, p. 3101-3107, 2019b.
- DEPOORTÈRE, R.; AUCLAIR, A. L.; NEWMAN-TANCREDI, A. **NLX-101, a highly selective 5-HT<sub>1A</sub> receptor biased agonist, mediates antidepressant-like activity in rats via prefrontal cortex 5-HT<sub>1A</sub> receptors.** Behavioural Brain Research, v. 401, p. 113082, 2021.
- IDERBERG, Hanna et al. **Activity of serotonin 5-HT<sub>1A</sub> receptor 'biased agonists' in rat models of Parkinson's disease and L-DOPA-induced dyskinesia.** Neuropharmacology, v. 93, p. 52-67, 2015.
- KENAKIN, Terry; MILLER, Laurence J. **Seven transmembrane receptors as shapeshifting proteins: the impact of allosteric modulation and functional selectivity on new drug discovery.** Pharmacological Reviews, v. 62, n. 2, p. 265-304, 2010.
- LLADÓ-PÉLFORT, Laia et al. **Preferential in vivo action of F15599, a novel 5-HT<sub>1A</sub> receptor agonist, at postsynaptic 5-HT<sub>1A</sub> receptors.** British Journal of Pharmacology, v. 160, n. 8, p. 1929-1940, 2010.
- MICHEL, Martin C.; CHARLTON, Steven J. **Biased agonism in drug discovery—is it too soon to choose a path?.** Molecular Pharmacology, v. 93, n. 4, p. 259-265, 2018.
- PATEL, Chetan B.; NOOR, Nabila; ROCKMAN, Howard A. **Functional selectivity in adrenergic and angiotensin signaling systems.** Molecular Pharmacology, v. 78, n. 6, p. 983-992, 2010.
- VAN GOETHEM, N. P. et al. **Divergent effects of the 'biased' 5-HT<sub>1A</sub> receptor agonists F15599 and F13714 in a novel object pattern separation task.** British Journal of Pharmacology, v. 172, n. 10, p. 2532-2543, 2015.